

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ВЗАИМОСВЯЗЬ КОНЦЕНТРАЦИИ РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ МОЛЕКУЛЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ 1 (sICAM-1) И ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Л.Н. ЖУРАВЛЕВА, В.И. НОВИКОВА

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Реферат

Инфекционная патология является одной из наиболее актуальных проблем перинатологии, определяющей высокий уровень заболеваемости и смертности новорожденных детей.

Целью работы явилось определение значения уровня sICAM-1 у новорожденных при наличии инфекционно-воспалительного заболевания. Мы наблюдали 12 новорожденных детей с генерализованной инфекцией, специфичной для перинатального периода (ИСПП), 27 новорожденных с врожденной пневмонией, группу сравнения составили 15 новорожденных без инфекционно-воспалительной патологии. Анализ уровня sICAM-1 в сыворотке крови, полученной в первые сутки жизни, позволил установить, что данный показатель был значительно повышен у детей с инфекционной патологией. Мы выявили значительную ($p < 0,05$) положительную корреляцию между концентрацией sICAM-1 в сыворотке крови на 1-2-й день и сроком нахождения ребенка на ИВЛ ($R = 0,34$; $p = 0,01$), а также между уровнем sICAM-1 в 1-2-е сутки жизни и длительностью антибактериальной терапии ($R = 0,35$, $p = 0,002$), отрицательную корреляционную связь со шкалой Апгар ($R = -0,67$, $p = 0,05$ и $R = -0,83$, $p = 0,002$ на 1-й и 5-й мин соответственно). Мы установили, что уровень sICAM-1 в сыворотке крови на 1-2 сутки жизни более 280 мг/л у недоношенных новорожденных может служить диагностическим критерием генерализованной формы ИСПП.

Ключевые слова: новорожденные, пневмония, sICAM-1, инфекция, недоношенные дети.

RELATION BETWEEN CONCENTRATION OF SOLUBLE FORM OF INTERCELLULAR ADHESION MOLECULE TYPE 1 (sICAM-1) AND INFECTIOUS DISEASES IN PRETERM NEWBORNS

L.N. ZHURAVLEVA, V.I. NOVIKOVA

Educational institution "Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University"

Abstract

Infectious pathology is one of the most actual problems of perinatology, which leads to the high level of morbidity and mortality in newborns. The aim of our work was to determine the value of the sICAM-1 level in newborns with an infectious-inflammatory disease. We observed 12 newborns with generalized infection specific for the perinatal period (ISPP), 27 newborns with congenital pneumonia, the comparison group consisted of 15 newborns without infectious pathology. The analysis of the level of sICAM-1 in blood serum obtained on the first day of life established that this indicator was significantly increased in children with infectious pathology. We found a significant ($p < 0.05$) positive correlation between the concentration of sICAM-1 in the blood serum on the 1-2nd day and the duration of mechanical ventilation ($R = 0.34$; $p = 0.01$), as well as between the level of sICAM-1 on days 1-2 of life and the time of antibiotic therapy ($R = 0.35$, $p = 0.002$), a negative correlation with the Apgar score ($R = -0.67$, $p = 0.05$).

and $R = -0.83$, $p = 0.002$ at the 1st and 5th minutes, respectively). We have established that the level of sICAM-1 in blood serum on the 1-2 day of life more than 280 mg/L in premature infants can serve as a diagnostic criteria for the generalized form of ISPP.

Key words: newborns, pneumonia, sICAM-1, infection, premature babies.

При рождении иммунная система у ребенка не полностью развита [1, 2]. Инфекционно-воспалительные заболевания в неонатальном периоде - чрезвычайно серьезное состояние, и диагностика данной патологии затруднена из-за отсутствия конкретных клинических симптомов и надежных ранних лабораторных показателей. В частности, у недоношенных новорожденных снижена способность противостоять инфекции, и это приводит к увеличению заболеваемости и смертности в неонатальном периоде, особенно среди недоношенных детей [3, 4]. Выделение возбудителя из посевов крови занимает до 72 часов и не позволяет идентифицировать большинство инфицированных младенцев. С-реактивный белок (СРБ) широко используется в качестве маркера инфекции, но не всегда позволяет выявить генерализованное инфекционное заболевание, в особенности у недоношенных новорожденных [1, 4, 5].

В настоящее время представления о патогенезе воспалительного процесса значительно видоизменились. Установлено, что наряду с бактериемией, интоксикационным синдромом, недостаточным функционированием системы иммунитета, важную роль играет дисфункция эндотелия [6, 7]. При чрезмерной неконтролируемой активации эндотелия возникают микротромбозы, тканевая и клеточная гипоксия, избыточная сосудистая проницаемость и гиперпродукция свободных радикалов, что способствует прогрессированию воспаления и в итоге приводит к повреждению тканей [8, 9, 10].

Субклиническая дисфункция является неблагоприятным прогностическим фактором даже при первоначально нетяжелой форме заболевания [10, 11]. Молекулы межклеточной адгезии 1-го типа (ICAM-1 – от *англ. Intercellular adhesion molecule type 1*) обеспечивают прочное прилипание лейкоцитов к эндотелию [8, 9].

Молекула межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) участвует в адгезии лейкоцитов к эндотелию и может иметь решающее значение в регулировании активации лейкоцитов при очень ранней воспалительной реакции. Экспрессия молекул адгезии регулируется активацией цитокинов, и было

показано, что несколько мембраносвязанных молекул адгезии могут быть обнаружены в кровотоке в растворимой форме. Растворимый ICAM-1 (sICAM-1) обычно присутствует в сыворотке здоровых взрослых, и недавние исследования изучали роль sICAM-1 в неонатальных инфекциях, но с противоречивыми результатами [8, 9].

ICAM-1 (CD54) относится к суперсемейству иммуноглобулинов, в физиологических условиях эндотелиальные клетки данную молекулу практически не экспрессируют. ICAM-1 плохо выявляется на «покоящемся» эндотелии. Индукторами экспрессии молекулы служат свободные радикалы, компоненты комплемента, оксид азота, липополисахариды, провоспалительные цитокины (интерлейкины-1, -6 и 8, фактор некроза опухоли α , интерферон γ и др.), лейкотриены, гистамин, тромбин и многие другие медиаторы [12, 13]. Кроме эндотелиальных клеток, ICAM-1 экспрессируют лимфоциты, моноциты, клетки бронхоальвеолярного эпителия [14, 15].

Лигандом для молекулы на мембранах лейкоцитов служат интегрины: LFA-1 (CD11a/CD18) и MAC-1 (CD11b/CD18). В сыворотке крови можно обнаружить растворимую форму молекулы (sICAM-1), которая образуется вследствие шеддинга, опосредованного протеолитическими ферментами: нейтрофильной эластазой, матриксной металлопротеиназой - 9 [16, 17]. Считают, что sICAM-1 способствует «отслойке» лейкоцитов от сосудистой стенки (деадгезии).

Оценке содержания ICAM-1 при сепсисе посвящено некоторое количество исследований. Сообщают, что у детей с сепсисом, в том числе новорожденных, уровень sICAM-1 уже с первого дня достоверно выше, чем у здоровых сверстников или детей с острыми воспалительными процессами без сепсиса [18, 19]. В то же время сообщают, что, хотя уровень этих биомаркеров у детей первого года жизни с сепсисом выше, чем у здоровых сверстников, он не коррелирует с тяжестью сепсиса. Однако, в литературе можно найти сведения о том, что sICAM-1 у пациентов в критическом состоянии не позволяет провести дифференциальную диагностику между сепсисом и «несепсисом» [20].

ЦЕЛЬЮ настоящего исследования явилось определение значения уровня sICAM-1 у новорожденных при наличии инфекционно-воспалительного заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данное исследование выполнялось в 2020 году на базах роддомов города Витебска и Витебского областного детского клинического центра. В группу детей с инфекционно-воспалительными заболеваниями были включены 12 новорожденных детей с генерализованной инфекцией, специфичной для перинатального периода (ИСПП), 27 новорожденных с врожденной пневмонией, группу сравнения составили 15 новорожденных без инфекционно-воспалительной патологии. Все дети, включенные в исследование, были недоношенными (гестационный возраст 28-36 недель).

Критерием включения в группу сравнения недоношенных новорожденных (контрольную) было отсутствие у них заболеваний респираторного тракта и инфекционно-воспалительной патологии. У 15 детей, которые составили контрольную группу, гестационный возраст (ГВ) был 33-36 недель гестации, масса тела при рождении 1920-2780 г. Все пациенты данной группы были переведены на второй этап выхаживания в Витебский детский областной клинический центр и имели патологию со стороны нервной системы.

Объектом исследования была сыворотка крови новорожденных детей. Для определения уровня растворимой формы молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1) мы производили забор 1 мл венозной крови на 1-2 сутки и на 9-14 сутки жизни. Исследуемые образцы крови мы помещали в пробирки с этилендиамин тетраацетатом. Затем мы центрифугировали образцы крови (1500-2000 оборотов/мин) в течение 10 мин и производили забор сыворотки (0,5 мл), которую хранили в пробирках без использования консерванта при температуре -20°C.

В сыворотке крови определяли уровень растворимой формы молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1) методом ИФА при помощи поликлональных антител использованием реактивов фирмы "Bioassay Technology Laboratory" (Китай). Учет реакции проводили на фотометре универсальном Ф 300 ТП (ОАО «Витязь» Беларусь). Результат реакции отображали в мг/л.

У новорожденных мы оценивали факторы риска осложненного течения неонатального периода, производили клиническое наблюдение,

лабораторное и инструментальное обследование согласно протоколам МЗ РБ.

Статистические данные мы представили в виде $M \pm SD$, где

M – среднее арифметическое,

SD – стандартное отклонение.

В случаях распределения, отличного от нормального данные представляли в виде

Me (Pr25÷Pr75), где

Me – медиана,

(Pr25÷Pr75) – верхний и нижний квартили.

Статистическая обработка полученного материала проводилась с расчетом U-критерия Манна-Уитни с применением стандартного пакета «Statistica 6.0». Также мы выполнили ROC-анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В группе детей с генерализованной инфекцией наблюдались менингоэнцефалит, пневмония, некротизирующий энтероколит, гепатит. У детей с генерализованной ИСПП наблюдались следующие клинические признаки со стороны дыхательной системы (тахипноэ, апноэ), сердечно-сосудистой системы (гипотензия, неадекватная перфузия органов, брадикардия и артериальная гипотензия) и нервной системы (синдром угнетения ЦНС, гипервозбудимости, судорожный синдром).

При анализе анамнестических данных матерей новорожденных с инфекционно-воспалительной патологией мы вывели следующие особенности: неоднократное искусственное прерывание предыдущих беременностей, самопроизвольные выкидыши, невынашивание предыдущих беременностей, наличие сопутствующей экстрагенитальной патологии. Все вышеперечисленные факторы способствовали осложненному протеканию беременности, развитию хронической гипоксии плода и внутриутробному инфицированию (табл. 1).

Исходя из данных таблицы 1, можно сделать вывод, что у матерей группы детей с инфекционно-воспалительной патологией достоверно чаще наблюдались артериальная гипертензия и обострения инфекционных заболеваний во время беременности, а также преждевременное излитие околоплодных вод в родах. Все вышеперечисленное способствовало развитию хронической гипоксии и внутриутробному инфицированию. Все дети с ИСПП и врожденной пневмонией рождались в более тяжелом состоянии, что коррелировало с более низкой оценкой по шкале Апгар (табл. 2).

При анализе полученных данных мы получили достоверную разницу между сравниваемыми

Таблица 1. Клинико-анамнестические факторы риска развития инфекционно-воспалительных нарушений у новорожденных детей исследуемых групп

Признаки	Дети с генерализованной ИСПП (n=12)	Дети с врожденной пневмонией (n=27)	Группа сравнения (n=15)
Масса при рождении, г	1524 ± 612	1472.8 ± 321.9	2243.6 ± 375.4
Гестационный возраст, нед.	33.1 ± 2.8	32.7 ± 3.1	34.5 ± 1.2
Оценка по шкале Апгар на 1 мин (баллы)	5 [4–6]	5 [4–6]	6 [5–7]
Артериальная гипертензия во время беременности	6 (50)**	9 (33,3)***	2 (13,3)
Инфекционные заболевания у матери во время беременности	8 (66,7)**	15 (55,5)***	3 (20)
ИВЛ более 1 нед.	4 (33,3)	13 (48,1)*	-
Длительность пребывания в стационаре (койко-дни)	44.2 ± 17.8	41.56 ± 7.5**	17.2 ± 3.4

* P₁₋₂ < 0,001;** P₁₋₃ < 0,01;*** P₂₋₃ < 0,001**Таблица 2.** Сравнение воспалительных показателей сыворотки крови у новорожденных с инфекционно-воспалительными нарушениями и группы сравнения в возрасте 1-2 дней жизни

Показатели	Дети с генерализованной ИСПП (n=12)	Дети с врожденной пневмонией 2 группа (n=27)	Группа сравнения (n=15)
Лейкоциты (x10 ⁹ /л)	27,5 [16,7-32,6]**	22,8 [14,6-27,8]	19,5 [13,7-24,5]
Палочкоядерные нейтрофилы (%)	6,9 [4,7-8,9]**	5,1 [4,9-7,2]	5,1 [3,2-6,5]
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	59,2 [47,4-68,6]	57,9 [31,7-63,7]	51,4 [45,4-62,7]
СРБ (мг/л)	8,6 [4,5-12,9]**	6,2 [5,1-7,6]***	4,7 [3,2-6,1]

* P₁₋₂ < 0,01;** P₁₋₃ < 0,01;*** P₂₋₃ < 0,01

группами детей, но только у детей с генерализованной инфекцией, а в группе детей с врожденной пневмонией при этом в показателях крови не было обнаружено статистически значимого лейкоцитоза, сдвига лейкоцитарной формулы влево, а отмечалось лишь незначительное повышение СРБ.

Учитывая все вышеперечисленное, можно сделать заключение, что традиционные биомаркеры воспалительных реакций, такие как лейкоцитоз, сдвиг лейкоцитарной формулы влево и С-реактивный белок (СРБ) оказались не столь точными в четком прогнозировании воспалительных изменений у новорожденных; следовательно, существует потребность в поиске оптимальных биомаркеров локализованного воспаления и генерализации инфекционного процесса у новорожденных [1, 4]. В этом контексте новым биомаркером инфекции может служить уровень раство-

римой формы молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1).

Анализ уровня растворимой формы молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1) (мг/л) в сыворотке крови, полученной в первые сутки жизни, позволил установить, что данный показатель был значительно повышен у детей с инфекционной патологией и генерализованной ИСПП (табл. 3). Значительное увеличение sICAM-1 у пациентов всех групп в возрасте 9-14 дней можно объяснить переходом детей из относительно гипоксической внутриматочной среды во внешнюю насыщенную кислородом внематочную среду, а также дети с ИСПП и врожденной пневмонией в большом проценте получали дополнительную дотацию увлажненного кислорода. Более того, у новорожденных есть еще незрелый или недостаточный механизм антиоксидантной защиты, что приводит к относительному усилению перекисного

Таблица 3. Сравнение уровня растворимой формы молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1) (мг/л) в сыворотке крови у новорожденных с инфекционно-воспалительными заболеваниями и группы сравнения в возрасте 1-2 и 9-14 дней жизни

	Дети с генерализованной ИСПП (n=12)	Дети с врожденной пневмонией 2 группа (n=27)	Группа сравнения (n=15)
1-2 сутки	268,7 [175,2-568,9]*	168,5 [72,3-267,5]***	80,3 [38-146]**
9-14 сутки	367,5 [187,4-783,5]	398,5 [191,2-509,6]***	224,6 [90,1-367,6]**

* $P_{1-2} < 0,05$;** $P_{1-3} < 0,05$;*** $P_{2-3} < 0,01$

окисления липидов и окислительному стрессу. Более того, мы получили достаточно гетерогенные данные по уровню пресепсина в группе детей с ИСПП и пневмонией на 9-14 сутки жизни. При внутригрупповом анализе следует отметить тот факт, что дети с летальным исходом ИСПП (2 случая) имели очень высокий уровень sICAM-1 (более 700 мг/л) в сыворотке крови на 1-2 день жизни по сравнению с уровнем выздоровевших детей. Но из-за малого количества летальных исходов, наблюдавшего в данной выборке пациентов, сделать вывод о корреляционной связи повышения уровня sICAM-1 и летальности не представляется возможным.

При анализе корреляционной взаимосвязи мы не обнаружили связи между sICAM-1 и гестационным возрастом пациентов, тяжестью течения воспалительного процесса. Мы выявили значительную ($p < 0,05$) положительную корреляцию между концентрацией sICAM-1 в сыворотке крови на 1-2-й день и сроком нахождения ребенка на ИВЛ ($R=0,34$; $p=0,01$), а также между уровнем sICAM-1 в 1-2-е сутки жизни и длительностью антибактериальной терапии ($R=0,35$, $p=0,002$), отрицательную корреляционную связь со шкалой Апгар ($R=-0,67$, $p=0,05$ и $R=-0,83$, $p=0,002$ на 1-й и 5-й мин соответственно).

С целью оценки ранней диагностической значимости определения уровня растворимой формы молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1) при генерализованной ИСПП у новорожденных детей мы провели ROC-анализ.

Исходя из этих данных (Рис. 1), можно сделать заключение, что определение уровня ПСП является более чувствительным и специфичным биомаркером диагностики генерализованного воспаления при ИСПП.

Таким образом, уровень растворимой формы молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1) в сыворотке крови на 1-2 сутки жизни более 280 мг/л у недоношенных новорожденных с ИСПП

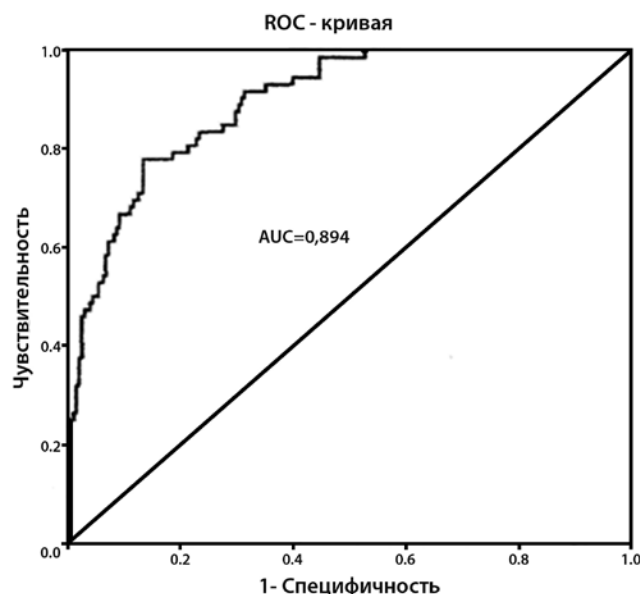


Рис. 1. ROC - кривая прогнозирования развития генерализованной инфекции у новорожденных (ПСП и СРБ)

может служить диагностическим критерием генерализованной формы воспаления.

В заключение, хотелось бы отметить, что растворимая форма молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1) является более чувствительным, точным и быстрым биомаркером и может широко использоваться для диагностики генерализованных инфекционных клинических форм заболеваний в практике неонатолога.

ЛИТЕРАТУРА

1. Неонатология – национальное руководство/под ред. академика РАМН проф. Н.Н. Володина/. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 749 с.
2. Levy, O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates/O. Levy//Nat. Rev. Immunol. – 2007. – Vol. 7. – P. 379–90.
3. Protecting the Newborn and Young Infant from Infectious Diseases: Lessons from Immune Ontogeny / T.R. Kollmann, B. Kampmann, S.K. Mazmanian [et al.] // Immunity. – 2017. – Vol. 46. – P. 350–63.

4. Ygberg, S. The developing immune system – from foetus to toddler/S. Ygberg, A. Nilsson// *Pediatrics*. – 2012. – Vol.101 – №2. – P. 120–127.
5. Козлов, В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии/В.К. Козлов// СПб.: Диалект. – 2006. – 304 с.
6. Pool, R. Mechanisms of organ dysfunction in sepsis/R. Pool, H. Gomez, J.A. Kellum//*Crit. Care Clin.* – 2017. – Vol.34 – №1. – P. 63–80.
7. Молчанова, Л.В. Системный воспалительный ответ и молекулы адгезии/Л.В. Молчанова// *Общ. реаниматол.* – 2005. – Vol.1 – №1. – P. 54–59.
8. Зотова Н.В. Особенности изменения в крови уровня цитокинов, растворимых форм молекул межклеточной адгезии и острофазного С-реактивного белка у пациентов с различной степенью тяжести течения и исхода сепсиса/Н.В. Зотова// *Российский иммунологический журнал*. – 2012. – Т. 6 (15). – №3. – С. 266–272.
9. Касаткина С.Г. Клинико-диагностическое значение изучения комплекса интима-медиа и уровня молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 у больных сахарным диабетом 2 типа/С.Г. Касаткина, Т.Н. Панова// *Российский кардиологический журнал*. – 2012. – №3 (95). – С. 47–50.
10. Petruzzello-Pellegrini, T.N. New insights into Shiga toxin-mediated endothelial dysfunction in hemolytic uremic syndrome/T.N. Petruzzello-Pellegrini, M. Moslemi-Naeni, P.A. Marsden// *Virulence*. – 2013. – Vol. 4 (6). – P. 556–563.
11. Adhesion molecules: master controllers of the circulatory system/Schmidt E.P., Kuiebler W.M., Lee W.L. [et al.]// *Compr. Physiol.* – 2016. – Vol. 6 (2). – P. 945–973.
12. Москалец, О.В. Диагностическое и прогностическое значение определения растворимых молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 у пациентов с сепсисом/О.В. Москалец// *Казанский мед. Журнал*. – 2018. – Т. 99 (4). – С. 645–650.
13. Soluble adhesion molecules correlate with surface expression in an in vitro model of endothelial activation// A.G. Kjaergaard, A. Dige, J. Krog [et al.] // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2013. – Vol. 113 (4). – P. 273–279.
14. Garton, K.J. Emerging roles of ectodomain shedding in the regulation of inflammatory responses / K.J. Garton, P.J. Gough, E.W. Raines// *J. Leukoc. Biol.* – 2006. – Vol. 79 (6). – P. 1105–1116.
15. Intercellular adhesion molecule-1 and vascular adhesion molecule-1 are increased in plasma of children with sepsis induced multiple organ failure/ M.J. Whalen, L.A. Doughty, T.M. Carlos [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 28 (2). – P. 2600–2607.
16. A prospective study of the sensitivity, specificity and diagnostic performance of soluble intercellular adhesion molecule 1, highly sensitive C-reactive protein, soluble E-selectin and serum amyloid A in the diagnosis of neonatal infection / J.D.M. Edgar, V. Gabriel, J.R. Gallimore [et al.]// *BCM Pediatr.* – 2010. – Vol.10. – P. 22.
17. Changes in the sublingual microcirculation and endothelial adhesion molecules during the course of severe meningococcal disease treated in the paediatric intensive care unit/F. Paize, R. Sargison, N. Makwana [et al.]// *Intensive. Care Med.* – 2012. – Vol. 38 (5). – P. 863–871.
18. Oxidative stress parameters and inflammatory and immune mediators as markers of the severity of sepsis / I. Bavunoglu, H. Genc, D. Konukoglu et al. // *J. Infect. Dev. Ctries.* – 2016. – Vol. 10 (10). – P. 1045–1052.
19. Clinical utility of biomarkers of endothelial activation in sepsis – a systematic review. / K. Xing, S. Murthy, W.C. Liles [et al.] // *Crit. Care.* – 2012. – Vol. 6 (1). – P. R7.
20. Endothelial cell activation in emergency department patients with sepsis-related and non-sepsis-related hypotension / P. Schueltz, A.E. Jones, W. Aird [et al.]// *Shock.* – 2011 – Vol. 36 (2). – P. 104–108.